

# MIKROHULLÁMÚ SZINTÉZISMÓDSZEREK KIDOLGOZÁSA PEPTIDEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

Doktori értekezés tézisei

**BACSA BERNADETT**

Témavezetők:

Dr. Dibó Gábor egyetemi docens  
ELTE Szerves Kémiai Tanszék

Dr. Mező Gábor tudományos tanácsadó  
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport



ELTE TTK Kémia Doktori Iskola

Vezető: Dr. Inzelt György egyetemi tanár

Szintetikus kémia, anyagtudomány, biomolekuláris kémia program

Programvezető: Dr. Perczel András egyetemi tanár

Budapest

2010

## 1. Bevezetés

Az elmúlt években a kémiai reakciók mikrohullámú melegítése közkezdvelt módszerré vált a szintetikus szerves és a gyógyszerkémiaiában. Az első két közlemény a mikrohullámú besugárzás használatáról a szerves kémiai reakciókban Gedye (1986) és Giguere (1986) nevéhez fűződik [1,2]. Azóta több mint 4000 közlemény jelent meg ezen a gyorsan fejlődő és izgalmas tudományterületen. Ezek jelentős részében arról számoltak be, hogy a mikrohullámú melegítés alkalmazása nemcsak a reakciósebesség drámai növekedésére, hanem a reakciók kitermelésére és a szelektivitásra is jelentős hatással lehet [3,4]. Ennek az új típusú fűtési technológiának az előnyét nemcsak a szerves kémia és a gyógyszerkutatás használja ki, hanem a mikrohullámú melegítés rutinszerű használata a polimerkémiaiában, az anyagtudományokban, a nanotechnológiában és a biokémiai eljárásokban is egyre elterjedtebbé válik. A mikrohullámú besugárzás szerves szintéziseknél akkora népszerűségnek örvend, hogy a mikrohullámú reaktorok könnyen a „XXI. század Bunsen égőivé” válhatnak, és standard berendezései lesznek minden kémiai laboratóriumnak [3].

A piackutatói tanulmányok adatai szerint az elmúlt években újra fokozott érdeklődés mutatkozik a peptidalapú hatóanyagok iránt. Széles körű biológiai szerepük (hormonok, vakcinák, hordozó molekulák, stb.) és kedvező biológiai és kémiai tulajdonságaik lehetővé teszik, hogy versenytársai legyenek a szintetikus gyógyszerjelölt kismolekuláknak. 2005 óta világszerte több mint 40 peptidalapú gyógyhatású készítményt regisztráltak és több mint 700 peptid van preklinikai és klinikai fázisban [5].

Az utóbbi években több kutatócsoport számolt be a mikrohullámú szilárdfázisú peptidszintézis tényleges hatékonyságáról. Az új technológia alkalmazása a peptidkémiaiában nemcsak az acilezési és hasítási reakciók gyorsaságára van hatással, hanem a tisztaságot, termékösszetételt is kedvezően befolyásolhatja [6,7].

Sikeresen alkalmazták ezt a modern melegítési módot közismerten gondot okozó építőelemek szekvenciába történő beépítésére is, mint például  $\beta$ -peptidek, glikopeptidek, foszfopeptidek, pszeudopeptidek, peptoidok, ciklikus peptidek, biopolimerek, peptid-konjugátumok és különböző típusú peptidmimetikumok előállításakor. Legújabbban, néhány kutatócsoport ún. nehéz szekvenciák előállítására is tett kísérletet. Az irodalomban leírt példák közül egyértelműen látszik a mikrohullámú peptidszintézis előnye a hagyományos, szobahőmérsékleten végzett szintézissel szemben. A tapasztalt pozitív hatás tudományos magyarázatának mind ez idáig nem szenteltek elegendő figyelmet.

## 2. Célkitűzések

Az elmúlt években fokozott érdeklődés mutatkozik a peptidalapú hatóanyagok iránt széles körű biológiai szerepük, elsősorban kedvező biológiai és kémiai tulajdonságaik miatt. A szilárdfázisú peptidszintézis bevezetése óta (Merrifield, 1963; Nobel-díj, 1984) jelentős fejlődésen ment keresztül, ugyanakkor vannak olyan szekvenciák, amelyek előállítása rutin módszerekkel sok nehézségbe ütközik. Jellemzően, ezeket a peptideket alacsony kitermeléssel vagy elégtelen tisztasággal lehet csak kinyerni. Az utóbbi években több kutatócsoport is beszámolt a mikrohullámú technika alkalmazásával végzett peptidszintézis hatékonyságáról. Az új technológia alkalmazása a peptidkémiaiban nemcsak a reakciók gyorsaságára lehet hatással, hanem a termékösszetétel, tisztaságot is kedvezően befolyásolhatja.

Doktori munkám célja volt, hogy a mikrohullámú technika alkalmazásával olyan új szintézisstratégiákat dolgozzak ki, amelyek általánosan és széles körűen alkalmazhatók peptidek és származékaik előállítására. Ennek a célnak a megvalósítása érdekében a következő feladatokat terveztem megoldani:

- Szintézismódszer kidolgozása peptidek előállítására szilárd fázison Fmoc/Bu stratégia alkalmazásával. Kezdetben, a mikrohullámú reaktorokban (pl. az általam használt CEM Discover) használt mikrohullámú reakcióedény nem volt alkalmas többlépéses szilárdfázisú reakciók kivitelezésére, ezért a szilárd hordozó kezelésére olyan újfajta reakcióedény bevezetését terveztem, amelyet addig még peptidek előállítására mikrohullámú körülmények között nem alkalmaztak.
- Mikrohullámú szilárdfázisú peptidszintézis reakcióparamétereinek (reakcióidő, hőmérséklet, magnetron teljesítmény, felfűtési sebesség, monitorálás, stb.) optimális megválasztása.
- A kifejlesztett technika rutinszerű alkalmazása különféle peptidek és származékaik gyors és hatékony szintézisére.
- Peptidek fluoreszcens jelölésének — *N*-terminális és oldallánc-aminocsoport — kidolgozása szilárd fázison mikrohullámú körülmények között.
- Szintézismódszer kifejlesztése aggregálódó, szintetikus szempontból nehézséget jelentő peptidek előállítására új generációs CEM Discover SPS mikrohullámú szilárdfázisú szintézisek kivitelezésére alkalmas reaktorban. A mikrohullámú szintézismódszer széles körű optimalizálása során különböző típusú szilárd hordozók, oldószerek és

oldószeranyagok kipróbálása. A kapcsolási lépésben az aminosav-származék és a kapcsolószerkezet mennyiségének, az oldat koncentrációjának optimalizálása.

Az elmúlt években megjelent közlemények többsége egyetért abban, hogy a mikrohullámú technika legnagyobb előnye a hagyományos, szobahőmérsékleten kivitelezett peptidszintézissel összevetve a hatékonyság növekedésében van. Egyes feltételezések szerint ennek oka az, hogy a szilárdfázisú peptidszintézis során alkalmazott mikrohullámú sugárzás közvetlen kölcsönhatásba lép a gyantán növekvő védett peptidlánccal. A poláris peptidgerinc és a peptidlánc *N*-terminális aminosóportja próbál a váltakozó mikrohullámú erőterhez igazodni, ennek hatására a kialakult inter- és intramolekuláris hidrogénhidak, másodlagos szerkezetek (pl.  $\beta$ -redő) felbomlanak. Így a mikrohullám képes megakadályozni (atermikus eredetű mikrohullámú hatás révén) a védett peptidlánc gyantán bekövetkező aggregációját, ami a sikertelen acilezési és hasítási reakciókhoz vezet [10, 129]. Fontos megjegyezni azonban, hogy a leírt feltételezést kísérletekkel még senki sem támasztotta alá. Munkánk előrehaladtával fontossá vált, hogy tanulmányozzuk a mikrohullámú besugárzás valódi hatását a szilárdfázisú peptidszintézis során. Ehhez az alábbi vizsgálatsorozatokat terveztük:

- A mikrohullámú kapcsolási és hasítási reakciók alatt a hőmérséklet folyamatos követése. Ennek a feladatnak a megoldása érdekében egy újonnan hozzáférhető, gyors válaszciklusú száloptikai hőmérsékletszennel egésszítettük ki az alapkészüléket.
- Különböző hosszúságú, aggregálódó modellpeptidek előállítását terveztük konvencionális melegítés alkalmazásával a mikrohullámú szintézis során mért hőmérsékleten. A hőmérséklet követéséhez ugyanazt a száloptikai szenzort alkalmaztuk, így biztosítva a teljes azonosságot.
- A két különböző melegítési módszerrel kapott modellpeptidek tisztaságának összehasonlítása.
- A magas hőmérsékleten kivitelezett szintézis során aminosavak racemizációjának vizsgálata.
- $\beta$ -amiloid (1–42) peptid racemizációmentes szintézisének kidolgozása mikrohullámú és konvencionális melegítés alkalmazásával.
- A két különböző módszerrel előállított  $\beta$ -amiloid (1–42) peptid citotoxicitásának vizsgálata és összehasonlítása SH-SY5Y humán neuroblasztóma sejtvonalon.

### 3. Eredmények

*Értekezésem elsődleges célja az újonnan kidolgozott mikrohullámú szintézisstratégiák bemutatása, amelyek általánosan és széles körben alkalmazhatók peptidek és származékaik előállítására. Továbbá választ kerestem arra a kérdésre, hogy a mikrohullámú besugárzás alkalmazása hogyan segíthet a szilárdfázisú peptidszintézis még meglévő problémáinak megoldásában, valamint a nem szokványos, szakmai kihívást jelentő nehézségek áthidalásában.*

1. A kalmodulinkötő modellpeptid előállítására hatékony szintézismódszert dolgoztam ki általános mikrohullámú szerves szintetizátorban (CEM Discover reaktor) rövid, pulzáló mikrohullámú besugárzás és a reakcióelegy gyors 0°C-ra történő hűtésének váltakozásával. A MicroKan<sup>TM</sup> kapszula bevezetésével a H-Trp-Asp-Thr-Val-Arg-Ile-Ser-Phe-Lys-OH nonapeptidet jelentősen rövidebb idő alatt állítottam elő, összehasonlítva a hagyományos, szobahőmérsékleten végzett szintézissel (12 óra helyett 2,5 óra). A végtermék tisztasága (83%) és kitermelése (95%) is kissé meghaladta a hagyományos szintézissel kapott peptidét (tisztaság: 81%, kitermelés: 82%).
2. Az általam fejlesztett mikrohullámú szintézismódszer alkalmazásával előállítottam egy másik a H-Phe-Ser-His-Pro-Gln-Asn-Thr-OH szekvenciájú, sztreptavidinkötő heptapeptidet, illetve annak N-terminálison 5(6)-karboxifluoresceinnel módosított származékát. Ily módon mindkét szintézis reakcióideje lerövidült (10,5 óra helyett 2 óra), a keletkezett vegyületek az analitikai eredmények (RP-HPLC) alapján (81%) megegyező tisztaságúnak bizonyultak a szobahőmérsékleten szintetizált peptidekkel (80%).
3. A kalmodulinkötő peptid (H-Trp-Asp-Thr-Val-Arg-Ile-Ser-Phe-Lys-OH) szilárdfázisú szintézisét optimalizáltam manuális mikrohullámú peptidszintetizátorra (CEM Discover SPS), amelyet többlépéses szilárdfázisú szintézisek kivitelezésére újonnan fejlesztettek ki. A kapcsolási lépésben 60°C-on, mindössze 5 perc reakcióidő alkalmazásával a modellpeptidet mikrohullámú körülmények között 95%-os tisztaságban és 90% feletti kitermeléssel kaptam.
4. A manuális mikrohullámú peptidszintetizátorra kifejlesztett (CEM Discover SPS) módszert, a kapcsoláskor a reakcióidő hosszabbításával (15 perc) sikeresen alkalmaztam a tetrafluoridin (OT20) peptid (H-(Thr-Lys-Pro-Lys-Gly)<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>) és a 19. pozícióban levő lizin

$\epsilon$ -aminocsoportján 5(6)-karboxifluoreszceinnel módosított származékának az előállítására (H-(Thr-Lys-Pro-Lys-Gly)<sub>3</sub>-Thr-Lys-Pro-Lys(CF)-Gly-NH<sub>2</sub>).

5. A mikrohullámú szintézismódszer további alkalmazásához olyan modellpeptidet választottam (H-Gly-Ile-Leu-Thr-Val-Ser-Val-Ala-Val-NH<sub>2</sub>), amelynek hagyományos módon történő előállítása, hidrofób aminosav-összetételéből adódóan nehézségeket okoz. A mikrohullámú szintézis optimalizálásához különböző típusú gyantákat, oldószereket és oldószerelegyeket próbáltam ki. Továbbá vizsgáltam a hőmérséklet (60–90°C), az aminosav-származék és kapcsolószerek moláris feleslegének hatását az acilezési reakció hatékonyságára. A mikrohullámú körülmények között ChemMatrix<sup>®</sup> gyantán 3 ekvivalens Fmoc-aminosav-származék (és DIC/HOBt) alkalmazásával mindössze 10 perc alatt (86°C), a modellpeptidet 91–95%-os tisztasággal sikerült előállítani. Összehasonlításként a peptid tisztasága 47% volt hagyományos szobahőmérsékletű szintézismódszert alkalmazva. Az elért eredmények azt mutatják, hogy a mikrohullámú technika jóval hatékonyabb a hagyományos szintézismódszernél.
6. Az irodalomban több közlemény jelent meg, amelyek szerint a mikrohullámú technológia pozitív hatása a peptidok előállítására nem termikus eredetű. Ezekben a közleményekben leírt feltételezés szerint a mikrohullámú energia képes közvetlen kölcsönhatásba lépni a gyantán aggregálódó peptidláncokkal és a hidrogénkötéseket megszüntetni, ezáltal elősegíti a peptidlánc továbbépítését. Munkám fontos része ennek a feltételezésnek kísérletekkel történő vizsgálata volt. Ezért olyan összehasonlító kísérleteket terveztünk, ahol a mikrohullámú szintézis körülményeit próbáltam „utánozni” konvencionális fűtéssel. Az összehasonlító kísérleteknél fontos volt a mikrohullámmal kiváltott reakció hőmérsékletének pontos és folyamatos követése. Ehhez az újonnan bevezetett, gyors válaszidejű száloptikai hőmérsékletszenzort (OpSens) használtam. Az OpSens szenzor segítségével a mikrohullámú szintézis során a reakcióelegy hőmérsékletét sokkal pontosabban tudtuk követni. Ugyanezzel a szenzorral követve azonos hőmérsékleten végeztem a H-Gly-Ile-Leu-Thr-Val-Ser-Val-Ala-Val-NH<sub>2</sub> peptid szintézisét konvencionális melegítés alkalmazásával. Ezen kísérletek alapján a modellpeptidet közelítőleg azonos tisztasággal tudtam előállítani konvencionális melegítéssel, mint mikrohullámú technikával. A kifejlesztett módszert alkalmaztam hosszabb „nehéz” szekvenciák előállítására is (cecropin A(1–7)–mellitin(2–9) hibrid peptid: (H-Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-NH<sub>2</sub>), magainin-II-amid peptid (H-Cys-Gly-Ile-Gly-Lys-Phe-Leu-His-Gly-Ala-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Ala-Phe-Val-Gly-Glu-Ile-Met-

Asn-Ser-NH<sub>2</sub>). Mikrohullámú technika használatával mindkét esetben viszonylag nagy tisztaságú peptideket sikerült előállítani, míg szobahőmérsékleten szignifikánsan alacsonyabb tisztaságú terméket kaptam. Ezeknél a peptideknél is elvégeztem az összehasonlító szintézist konvencionális fűtés alkalmazásával, a kapott nyerstermékek tisztasága itt is megközelítette a mikrohullámú szintézissel nyert peptidét. Ezek az eredmények azt valószínűsítik, hogy a mikrohullám pozitív hatása a peptidek előállítására pusztán termikus eredetű, azaz nem bizonyítható semmiféle atermikus mikrohullámú hatás fellépése.

7. A hagyományos, szobahőmérsékletű szilárdfázisú peptidszintézisnél uretán típusú védőcsoportok, megfelelő aktiváló reagensek és oldószerek kombinációjával a racemizáció lejárásodása szinte teljesen visszaszorítható. Feltehető azonban, hogy a szintéziskörülmények megváltoztatásával (pl. hőmérséklet emelésével) jelentősebb racemizációval számolhatunk. A legkisebb mértékű racemizáció is döntően befolyásolhatja a peptidek biológiai aktivitását, ezért fontos a peptidek enantiomertiszta állapotban történő előállítása. Megvizsgáltam, hogy a 86°C-on végzett mikrohullámú szintézis hogyan befolyásolja a racemizációt. Az általam így előállított H-Gly-Ile-Leu-Thr-Val-Ser-Val-Ala-Val-NH<sub>2</sub> modellpeptid esetében nem találtunk különbséget a normál, szobahőmérsékleten végzett szintézishez képest, a racemizáció mértéke elhanyagolható volt. Vizsgálataim alapján azonban megállapítható, hogy a két racemizációra legérzékenyebb aminosav (hisztidin és cisztein) mikrohullámú körülmények között történő beépítésénél jelentős racemizáció lép fel. A konvencionális melegítéssel, azonos hőmérsékleten előállított modellpeptidnél hasonló mértékű racemizációt tapasztaltam.
8. A racemizációs kísérleteket figyelembe véve, a mikrohullámú szintézismódszert továbbfejlesztettem és sikerrel alkalmaztam a 42 aminosavból álló — az Alzheimer-kór kialakulásában fontos szerepet játszó —  $\beta$ -amiloid peptid előállítására. Míg szobahőmérsékleten a peptid szilárdfázisú szintézise komoly nehézséget okoz, a mikrohullámú melegítés alkalmazásával az  $\beta$ -amiloid (1–42) peptidet jó tisztasággal, mindössze 16 óra alatt sikerült előállítani. A legjobb eredményt akkor kaptam, amikor a kapcsolási lépésben 86°C-on, 5 ekvivalens Fmoc-aminosav-származékot (és DIC/HOBt) használtam, ekkor mindössze 10 perces reakcióidő elegendőnek bizonyult. A peptidben levő három hisztidin kapcsolását szobahőmérsékleten végeztem, így az aminosav racemizációját is sikerült minimálisra szorítani.

9. Meghatároztuk a két különböző módszerrel előállított  $\beta$ -amiloid (1–42) peptid *in vitro* citotoxicitását SH-SY5Y humán neuroblasztóma sejtvonalon, és a peptidek  $IC_{50}$  értékét MTT teszt segítségével határoztuk meg. A  $\beta$ -amiloid (1–42) peptidek koncentráció-függő görbéi alapján megállapítottam, hogy a mikrohullámú szintézismódszerrel ( $IC_{50} = 5,12 \mu\text{mol}$ ) és a konvencionális melegítéssel ( $IC_{50} = 5,48 \mu\text{mol}$ ) előállított  $\beta$ -amiloid (1–42) peptidek citotoxicitása SH-SY5Y humán neuroblasztóma sejteken közel azonos. Tehát a két különböző módon előállított  $\beta$ -amiloid (1–42) peptidnek nemcsak a kémiai jellemzői, hanem a biológiai (*in vitro* citotoxicitása) aktivitása is gyakorlatilag megegyezik.

Összefoglalva elmondható, hogy a választott modellpeptidek mikrohullámú szintézise jelentősen rövidebb idő alatt végezhető el, mint hagyományos módon. A tapasztalt pozitív hatás pusztán termikus eredetű volt és nincs összefüggésben a mikrohullámú térrel. Nem találtam bizonyítékot arra, hogy a mikrohullám közvetlen kölcsönhatásba lépne a gyantán levő peptidlánccal, ami a peptid dezaggregációjához vezetne. Végül szeretném megjegyezni, hogy Arrhenius törvénye alapján a peptidszintézis során a hőmérséklet emelése szobahőmérsékletről például  $60^{\circ}\text{C}$ -ra körülbelül 50-szeres reakciósebesség-növekedést eredményez. Valószínűsíthető, hogy a hőmérséklet okozta reakciósebesség-növekedés a felelős a peptidek hatékony, rövid idő alatt történő előállíthatóságáért. Feltételezhetően a rendkívül gyors hőtranszfer magyarázza a mikrohullámú szintézismódszer hatékonyságát.

#### A tézishez kapcsolódó közlemények

1. Giguere RJ, Bray TL, Duncan SM, Majetich G. Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4945–4948.
2. Gedye R, Smith F, Westaway K, Ali H, Baldisera L, Laberge L, Rousell J. The Use of Microwave Ovens for Rapid Organic Synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 279–282.
3. Kappe CO. Controlled microwave heating in modern organic synthesis. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2004**, 43, 6250–6284.
4. Kappe CO, Dallinger D. Controlled microwave heating in modern organic synthesis: highlights from the 2004–2008 literature. *Mo.l Divers.* **2009**, 13, 71–193.
5. Marx V. Watching peptide drugs grow up. *Chem. Eng. News* **2005**, 83, 17–21.
6. Sabatino G, Papini AM. Advances in automatic, manual and microwave-assisted solid-phase peptide synthesis. *Curr. Opinion Drug Discov. Dev.* **2008**, 11, 762–770.
7. Collins JM, Leadbeater NE. Microwave energy: a versatile tool for the biosciences. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1141–1150.
8. Palasek SA, Cox ZJ, Collins JM. Limiting racemization and aspartimide formation in microwave-enhanced Fmoc solid phase peptide synthesis. *J. Peptide Sci.* **2007**, 13, 143–148.



## Short summary

The first part of my PhD work was focusing on developing a general method for the preparation of peptides and their derivatives using microwave technology. Firstly, the synthesis of the selected calmodulin binding nonapeptide was optimized in a CEM Discover reactor. The synthesis protocol is based on the use of cycles of pulsed microwave irradiation with intermittent cooling of the reaction mixture to subambient temperatures. When the resin beads were encapsulated in Microkan<sup>TM</sup> container, the preparation of the model peptide required in a significantly shorter time, and resulted in nearly identical purity and yield compared to conventional peptide synthesis carried out at room temperature.

Subsequently, other synthetically difficult peptide sequences were selected. Microwave-assisted peptide synthesis was performed using a recently introduced manual microwave peptide synthesizer (CEM Discover SPS). Solid-phase syntheses of difficult peptide sequences were carried out on different solid supports. A variety of coupling solvents/mixtures and chaotropic salt additives was investigated. In a set of experiments, the influence of the reaction temperature (60–90°C) and the excess of amino acid on the efficiency of the acylation steps were established. Using only 10 min irradiation time at 86°C, the model peptide was obtained in 92% purity. A control experiment at room temperature furnished the desired peptide only in 32% purity. The results presented clearly demonstrate the general effectiveness of microwave-assisted solid-phase peptide synthesis in comparison to conventional solid-phase peptide synthesis at room temperature.

The second part of my PhD work was dedicated to the examination of a recently suggested hypothesis. Accordingly, the observed enhancements during microwave-assisted peptide synthesis are related to the microwave field (nonthermal microwave effect) and are not only purely thermic. Using recently developed fast responding temperature probe, the reaction temperature was monitored during microwave-assisted peptide synthesis. In order to establish the true value of using microwave technology for peptide synthesis a comparison of microwave and conventionally heated reaction were conducted at the same temperature. In our hand, the purity of each difficult peptide sequence was nearly identical when coupling/deprotection steps were performed under conventional or microwave heating at the same temperature monitored by identical temperature probe. Consequently, the main effect of microwave irradiation applied to solid-phase peptide synthesis is purely thermal effect and it is not related to an alternating electromagnetic field.

In order to investigate the effect of temperature on amino acid racemization during solid-phase peptide synthesis at elevated temperature, model peptides synthesized by conventional and microwave heating were compared. While for most amino acid no significant racemization was observed, the high coupling temperatures led to considerable levels of racemization for the sensitive amino acids histidine and cysteine. Subsequently, the coupling of these two sensitive amino acids was performed at room temperature to eliminate the effect of racemization. By applying the improved method,  $\beta$ -amyloid (1–42) peptide was successfully synthesized at elevated temperatures. The results of *in vitro* cytotoxicity assay indicate that the microwave-synthesized peptide is equally effective as the peptide synthesized under conventional heating conditions at the same temperature.

## A tézisek alapjául szolgáló saját közlemények

1. **Bacsa B**, Bösze Sz, Kappe CO. Direct solid-phase synthesis of the  $\beta$ -Amyloid (1–42) peptide using controlled microwave heating. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2103–2106. [IF 3,952]
2. **Bacsa B**, Horváti K, Bösze Sz, Andreae F, Kappe CO. Solid-phase synthesis of difficult peptide sequences at elevated temperatures — A critical comparison of microwave and conventional heating technologies. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 7532–7542. [IF 3,952], Független idézettség: 13
3. **Bacsa B**, Kappe CO. Rapid solid-phase synthesis of a calmodulin binding peptide using controlled microwave irradiation, *Nature Protocols* **2007**, 2, 2222–2227. [IF 1,671], Független idézettség: 7
4. **Bacsa B**, Desai B, Dibó G, Kappe CO. Rapid solid-phase peptide synthesis using thermal and controlled microwave irradiation. *J. Peptide Sci.* **2006**, 12, 633–638. [IF 1,801], Független idézettség: 23
5. \***Bacsa B**, Gombosuren N, Kappe, CO, Dibó G. Microwave-assisted peptide synthesis, *Peptide Science 2005*, (Hidaka Y, Wakamiya T, Ed.), Protein Foundation, Osaka, **2006**, pp. 33–34. Független idézettség: 2

\*Folyóiratban megjelent előadáskivonat

## A témában bemutatott előadások, posztterek

1. **Bacsa B**, Horváti K, Bösze Sz, Andreae F, Kappe CO. Microwave-assisted solid-phase peptide synthesis, *ZING Microwave and Flow Chemistry Conference*, Antigua, 2009. — *meghívott előadó*
2. **Bacsa B**, Horváti K, Bösze Sz, Andreae F, Kappe CO. *MAOPS 2009 — Microwave assisted organic and peptide synthesis*, Montpellier, Franciaország, 2009. — *orális előadás*
3. **Bacsa B**, Horváti K, Bösze Sz, Andreae F, Kappe CO. Solid-phase peptide synthesis at elevated temperatures — A comparison of conventional and microwave heating technology. *30th European Peptide Symposium*, Helsinki, Finnország, 2008.
4. Kappe CO, **Bacsa B**. Solid-phase peptide synthesis using controlled microwave heating. *236th ACS National Meeting*, Philadelphia, PA, USA, 2008.
5. **Bacsa B**, Desai B, Dibó G, Kappe CO. Rapid solid-phase synthesis of a calmodulin-binding nonapeptide using thermal and controlled microwave irradiation. *Advances in Microwave-Assisted Organic Synthesis, MAOS 2006*, Budapest, 2006. — *poszter díj*
6. **Bacsa B**, Kappe CO, Dibó G. Tapasztalatok a mikrohullámú peptidkémiaiában. *MTA Peptidkémiai Munkabizottság és a Nukleotidkémiai Munkabizottság együttes tudományos ülése*, Balatonszemes, 2006.
7. **Bacsa B**, Gombosuren N, Kappe CO, Dibó G. Mikrohullámmal kiváltott szerves szintézisek, *XI. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia, 2005.
8. **Bacsa B**, Gombosuren N, Kappe CO, Dibó G. Microwave-assisted peptide synthesis. *42nd Japanese Peptide Symposium*, Osaka, Japán, 2005.

9. **Bacsa B**, Kappe CO, Dibó G. A novel approach for microwave-assisted peptide synthesis. *Symposium on Microwave Accelerated Synthesis (MAS-5)*, Düsseldorf, Németország, 2005.

10. **Bacsa B**, Gombosuren N, Kappe CO, Dibó G. Application of microwave technology for the synthesis of peptides and their derivatives. *4th Bulgarian Peptide Symposium*, Dolna Bania, Bulgária, 2005.

#### A témához nem kapcsolódó publikációk:

1. \*Gombosuren N, Schlosser G, Pócsfalvi G, **Bacsa B**, Furka Á, Dibó G. Mass spectrometric monitoring of binding assays, *Peptide Science 2004*, (Shimohigashi Y, Ed.), Protein Foundation, Osaka, 2005. pp. 191–192. — *poszter díj*

2. \***Bacsa B**, Gombosuren N, László L, Furka Á, Dibó G. Application of fluorescent labeling for combinatorial libraries, *Peptide Science 2004*, (Shimohigashi Y, Ed), Protein Foundation, Osaka, 2005. pp. 209–210.

3. \***Bacsa B**, Gombosuren N, Furka Á, Dibó G. Fluorescently labelled protein libraries, *Peptides 2004*, Wiley, London, UK, 2005. pp. 376–377.

4. Schlosser G, Gombosuren N, **Bacsa B**, Dibó G, Malorni A, Hudecz F, Pócsfalvi G. Detection of noncovalent interactions by solid-phase affinity capture mass spectrometry, *Bioorganic Chemistry Meeting-2*, Budapest, Hungary, 2005.

5. **Bacsa B**, Gombosuren N, Furka Á, Dibó G. Fehérjekönyvtárak fluoreszcens jelzése, *X. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia, 2004.

6. Gombosuren N, Schlosser G, **Bacsa B**, Furka Á, Dibó G. A tömegspektrometria alkalmazása kötődésvizsgálatokban, *X. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia, 2004. — *poszter díj*

7. Gombosuren N, **Bacsa B**, Furka Á, Dibó G. Fluoreszcens jelzés alkalmazása a kombinatorikus kémiában, *MTA Peptidkémiai Munkabizottság tudományos ülése*, Balatonszemes, 2004.

8. Gombosuren N, **Bacsa B**, László L, Furka Á, Dibó G. Peptid-fehérje kölcsönhatások vizsgálata fluoreszcens jelzés alkalmazásával, *IX. Nemzetközi Vegyészkonferencia*, Kolozsvár, Románia, 2003.

*\*Folyóiratban megjelent előadáskivonat*